

Mikrobiom šišmiša

Zec, Andro

Undergraduate thesis / Završni rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:801475>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-17**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO – MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK**

**MIKROBIOM ŠIŠMIŠA
THE MICROBIOME OF BATS
SEMINARSKI RAD**

Andro Zec
Preddiplomski studij Biologije
(Undergraduate Study of Biology)
Mentor: doc. dr. sc. Sunčica Bosak

Zagreb, 2020.

Sadržaj

1. UVOD	2
2. BIOLOGIJA I NAVIKE ŠIŠMIŠA.....	3
3. EVOLUCIJSKI UTJECAJ LETA NA MIKROBIOM ŠIŠMIŠA I PTICA	5
4. MIKROORGANIZMI ŠIŠMIŠA	8
4.1. MIKROBIOM KOŽE.....	8
4.2. MIKROBIOM PROBAVNOG SUSTAVA	10
5. PATOGENI MIKROORGANIZMI ŠIŠMIŠA	12
6. LITERATURA	15
7. SAŽETAK.....	17
8. SUMMARY	17

1. UVOD

Sisavci su se razvili u svijetu mikroba i zbog toga su njihovi mikrobnji simbionti odigrali važnu ulogu u njihovoj evoluciji. Nove poddiscipline metagenomike proučavaju i istražuju puteve u kojima su mikrobi, specifično oni u probavnom sustavu, olakšali ekološku i filogenetsku radijaciju svih sisavaca na Zemlji. Problem je u tome što su istraživanja dosad bila usmjerena na domaće životinje i modelne organizme. Rezultat toga je da postoji veliki broj studija koje su usmjerene na vrlo mali broj vrsta te nedostaje modelni organizam za istraživanje evolucije mikrobioma sisavaca (Ingala i sur., 2018). Šišmiši (*Mammalia*, *Chiroptera*) su izrazito interesantan izbor za modelni organizam istraživanja mikrobioma. Imaju nekoliko specifičnih značajki koje ih odvajaju od ostatka sisavaca. Jedini su leteći sisavci (dapače, uz ptice su i jedini leteći kralježnjaci), raznovrsno se prehranjuju, raznolikih su veličina tijela i imaju važnu ulogu u oprašivanju i suzbijanju štetočina. Osim toga, prirodni su domaćini za mnoge RNA i DNA viruse koji iznimno negativno utječu na čovjeka (Edenborough i sur., 2020).

U ovom radu naglasak je stavljen na sam mikrobiom šišmiša, od korisnih simbiotskih bakterija koje su im nužne za raznovrsnu prehranu i probavu hranjivih tvari, do raznih DNA i RNA virusa i štetnih bakterija koje mogu, ali i ne moraju, biti štetne njima, ali mogu štetiti i drugim vrstama. Mnoga su istraživanja našla važne poveznice između filogenije domaćina i bakterijske populacije, a druga su poveznicu pronašla u prehrani i označila je kao temeljni pokretač asocijacija između domaćina i mikrobne zajednice. Što su domaćin i mikrobi evolucijski duže povezani, to je veća uloga mikroba u domaćinu, a one manje označavaju ili prolaznu ili slučajnu povezanost. Naravno, sve te poveznice variraju ovisno o vrsti i području koje ta vrsta nastanjuje, odnosno, nema svaka jedinka jednak mikrobiom (Lutz i sur., 2019).

Šišmiši se sporo razmnožavaju – jednom godišnje jedno mladunče, a kod većine vrsta ženke imaju dvije sise, pa ih se zbog tog obilježja prije svrstavalo u primata (po prvoj klasifikaciji Carl von Linnaeusa). Uspijevaju opstati unatoč niskoj stopi razmnožavanja zato što su dugoživuće životinje, mogu živjeti između 20 i 30 godina. Ljudski utjecaj je krčenjem šuma, svjetlosnim zagađenjem, pesticidom i zaštitnim sredstvima, u kombinaciji s niskom stopom razmnožavanja, doveo do veće stope ugroženosti šišmiša. Prema IUCN-u (International Union for Conservation of Nature and Natural Resources), od više od 1400 vrsta izumrlo ih je 12, a 75 je još ugroženo. (<https://en.wikipedia.org/wiki/Bat>)

2. BIOLOGIJA I NAVIKE ŠIŠMIŠA

Šišmiši su podijeljeni na dva velika podreda: *Megachiroptera* (veliki šišmiši koji su dominantni u starom svijetu) i *Microchiroptera* (vrste koje su prisutne diljem zemlje). Variraju bojom, veličinom i količinom dlake (Wilson, 2020). Lako su prepoznatljive životinje koje često možemo vidjeti noću u letu, a razlog te noćne aktivnosti, ne samo leta, je taj što im daje zaštitu od predatora kojima je glavno osjetilo vid i ujedno ih štiti od izlaganja suncu, visoke temperature i niske vlage (Wilson, 2020). Prvo što se na njima može primijetiti su njihova krila koja imaju specifične morfološke prilagodbe za let. Kod većeg broja obitelji šišmiša postoje različiti omjeri tjelesne mase i veličine krila. Pri mjerenju krila uzimaju se razni faktori – veličina krila, oblik krila, a sama se ruka na vrhu krila mjeri zasebno i pomaže pri određivanju stupnja zaobljenosti krila. Drugi faktori koji utječu na adaptaciju i izgled krila su migracije, let s fetusom ili mladima, pa čak i nošenje tereta (Norberg i sur., 1987).

Rasprostranjeni su diljem cijeloga svijeta, ali pogotovo u tropima, u zapadnoj Africi, nalazimo više od 30 rodova, a u SAD-u je zabilježeno 19 rodova (Wilson, 2020).

Hrane se primarno kukcima. Za vrstu *Tadarida brasiliensis Mexicana* procjenjuje se da godišnje pojede 10 000 tona insekata što znači da su iznimno važni u balansiranju populacija insekata i mogućoj kontroli štetnih insekata. Postoje također šišmiši koji se hrane peludom i nektarom i sudjeluju u oprašivanju, a drugi se hrane voćem i pomažu pri rasprostranjivanju sjemenki. Osim toga, postoje i vampirski šišmiši koji su ozbiljne štetočine za životinje u domaćem uzgoju diljem tropske Amerike. Svi šišmiši mogu nositi razne viruse, međutim, ono što vampirske šišmiše čini najštetnijima i najopasnijima je činjenica da se oni hrane krvlju plijena čime mu mogu u sustav izravno unijeti patogeni mikroorganizam (Wilson, 2020).

Preferiraju život u špiljama, udubinama u reljefu i pri odabiru mjesta izrazito paze kako bi na novom mjestu bili odgovarajući uvjeti: temperature, svjetlosti i vlage. Mnoge vrste šišmiša umjerene klime također i migriraju, od i prema ljetnim gnijezdima te zimskim hibernacijskim područjima. Svaki šišmiš okupira isto mjesto na kojemu se stalno nalazi, ali nije poznato je li im to genetički urođeno, ili imaju samo jako dobar osjećaj za prostor i okolinu (Wilson, 2020).

Orijentiraju se pomoću sonara, odnosno eholokacije, emitiraju kratke zvukove visoke frekvencije i slušaju odbijanje zvuka od predmeta u okolini. Pomoću toga šišmiši se mogu orijentirati u prostoru, identificirati smjer, udaljenost, brzinu ili oblik okoliša. Eholokaciju koriste kako bi ulovili leteći i kopneni plijen, izbjegli prepreke i kontrolirali visinu leta. Uz to, eholokacijom mogu međusobno komunicirati – zbog toga imaju velike uši, kako bi pojačali primitak signala. Osim toga,

srednje i unutarnje uho specijalizirani su za osjetljivost na visoke frekvencije. Izmjerene su minimalne količine podražaja za primanje zvuka visoke frekvencije kod nekoliko vrsta, pa su kod svake vrste područja maksimalne osjetljivosti bila u velikoj blizini frekvencija koje odašilje sam šišmiš (Wilson, 2020).

Još nisu promatrane socijalne interakcije kod starijih šišmiša, ali poznato je da se segregiraju na temelju spola. Trudne ženke mogu okupirati specijalna gnijezda unutar kojih hrane mlade i čekaju da se osamostale (Wilson, 2020).



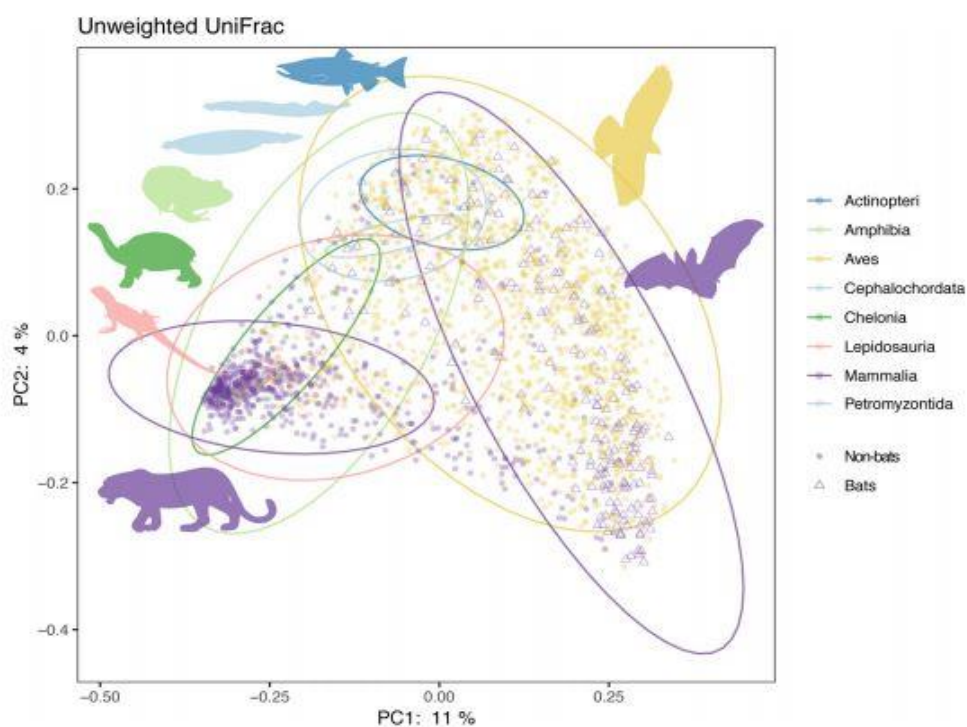
Slika 1. Prikaz kolonije šišmiša, predstavnika podreda *Megachiroptera*, vrste *Pteropus scapalatus*. Preuzeto sa:
<https://en.wikipedia.org/wiki/Megabat>



Slika 2. Prikaz predstavnika šišmiša iz podreda *Microchiroptera*, vrste *Corynorhinus townsendii*. Preuzeto sa:
<https://en.wikipedia.org/wiki/Microbat>

3. EVOLUCIJSKI UTJECAJ LETA NA MIKROBIOM ŠIŠMIŠA I PTICA

Mikroorganizmi šišmiša, odnosno mikrobiom šišmiša iznimno je zanimljiv za proučavanje zato što se razlikuje od većine sisavaca. U raznim istraživanjima također je pokazana visoka konvergencija s mikrobiomom ptica. Pretpostavlja se da je tako zato što lete. U provedenom istraživanju uzet je i proučen čitav mikrobiom > 900 vrsta od kojih je 315 sisavaca i 419 ptica. Kod neletećih sisavaca uočeno je da prehrana i bliska evolucijska povezanost najviše utječu na sastav mikrobioma i da su mnoge mikrobne vrste specifične prema vrsti domaćina. Ptice i šišmiši ne prate isto pravilo, kod njih je uočeno kako vrste mogu međusobno dijeliti mikrobe, a nema ni specifičnosti prema domaćinu, pa su im mikrobiomi neovisni o prehrani (Song i sur., 2020).



Slika 3. Uzorci životinjskih mikrobioma prikazani u koordinatnom sustavu – boje označuju pojedine životinjske razrede, a uzorci dobiveni iz šišmiša prikazani su trokutom. Jasno je vidljiva podudarnost mikrobioma šišmiša i ptičjeg mikrobioma.

Preuzeto iz Song i sur. (2020.).

Primijećena je uska povezanost između mikrobioma šišmiša i mikrobioma ptica (**slika 3.**). Naime, kod šišmiša unutarnji mikrobi ne prate prehrambene navike domaćina kao što je jasno vidljivo kod drugih sisavaca. Međutim, kod neletećih ptica (*Struthioniformes*, *Rheiformes*, *Tinamiformes*) uočeno je kako im se mikrobiom manje podudara s „normalnim” ptičjim mikrobiomom nego s mikrobiomom neletećih sisavaca (Song i sur., 2020).

Takvi podaci, vezani uz leteće sisavce (šišmiše) i neleteće ptice, dodatno ukazuju na to kako sposobnost aktivnog leta ima jak utjecaj na mikrobiom tih vrsta. Moguća su tri uzroka takve konvergencije između ptica i šišmiša: ekološka, evolucijska i tehnička (Song i sur., 2020).

Prva mogućnost – let izlaže individualne jedinke mnogim i raznolikim izvorima mikrobnih populacija što samim time povećava diverzitet utrobnih mikroba. To bi bilo moguće kad bi dinamike mikrobioma bile neutralne, ali nisu. Kad bi to bilo tako, alfa diverzitet bi bio izrazito visok, no kod ptica i šišmiša uočen je niži alfa diverzitet od uobičajenog za sisavce (Song i sur., 2020).

Druga mogućnost proizlazi iz prisutnosti leta – i ptice i šišmiši imaju prilagođene probavne sustave s kraćim crijevom i bržim prolaskom materijala kroz organizam. Kraće crijevo ostavlja manje anaerobnog prostora što uklanja barijeru za mikrobnu izmjenu u aerobnom okruženju. Također, i ptice i šišmiši imaju manjak obligatnih anaeroba i povećan broj fakultativnih anaeroba u organizmu (Song i sur., 2020).

Metabolički zahtjevi za let mogu imati sličan efekt na specifičnost mikrobioma i doveli su do visoke konvergencije. Šišmiši imaju jako kompaktne genome u odnosu na srodnike iz skupine sisavaca zato što im je za let bio potreban gubitak mase, a kao nuspojava toga javlja se i gubitak DNA materijala. Osim što se gubi sama DNA šišmiša, moguće je i da se pritisak za gubitak mase nastavio i na mikrobnu biomasu. Razvijen je mehanizam da domaćin (šišmiš) direktno upija jednostavne hranjive tvari što smanjuje potrebu za povećanim brojem mikrobnih simbionta. Proučavanjem ptičjeg ili šišmišova fecesa može se zamijetiti kako je u fecesu znatno manji broj mikroba nego u fecesu drugih, neletećih, sisavaca (Song i sur., 2020).

Osim toga, šišmiši i ptice su izgubili asocijaciju s *Bacteroidetes*, a zadržali su povezanost s *Proteobacteria*, grupom bakterija koja ima visoku funkcionalnu varijabilnost. To je letećim vrstama omogućilo da zadrže visoku funkcionalnost, istodobno smanjujući masu i diverzitet mikroba (Song i sur., 2020).

Šišmiši su gubitkom mase, a samim time i genoma, izgubili mnoge gene imunosne funkcije, ali geni koji su uključeni u minimalizaciju DNA štete povezani su s imunosnom funkcijom i pod pozitivnom su selekcijom. Adaptacija na let utjecala je na ključne aspekte imunosti s obzirom na to da je njihova ekspresija kontinuirana kako bi spriječila imunosnu štetu pri letu, a također je šišmišima omogućila povećanu otpornost na virusne patogene – bez prikazivanja ikakvih simptoma bolesti. Osim virusnih patogena, šišmiši su se također pokazali boljim domaćinom povećanom broju potencijalno patogenih bakterija u odnosu na druge sisavce (Song i sur., 2020).

Također je moguć utjecaj prehrane insektima kojima se velik broj vrsta šišmiša hrani. Kod ptica je prehrana zanemarujući faktor, ali kod svih sisavaca insektivori imaju mikrobe koji su

najmanje nalik uobičajenim mikrobima kod sisavaca, a ujedno, nalik pticama i šišmišima, imaju povećane količine *Proteobacteria* (Song i sur., 2020).

Insektivorni sisavci pokazuju određenu konvergenciju unutarnjih mikroba, primjerice, podaci pokazuju kako se mikrobne zajednice oportunističkog insektivora *Tolypeutes matacus* grupiraju s drugim zajednicama insektivora prisutnim u istraživanju, a omnivorni se srodnici *Chaetophractus* i *Euphractus* grupiraju zasebno (Delsuc i sur., 2014).

4. MIKROORGANIZMI ŠIŠMIŠA

Kao što je prije navedeno, šišmiši imaju reduciran mikrobiom što je nuspojava redukcije mase koja je uslijedila pojavom leta. Kao što je opće poznato, mikroorganizmi nisu samo u probavnom sustavu nego se mogu naći po cijelom tijelu, uključujući i kožu.

4.1. MIKROBIOM KOŽE

Započnimo s mikroorganizmima koje možemo naći na koži šišmiša. Mnoge bakterijske svojte možemo naći i na koži i u okolini, ali neke su, u odnosu na okolinu, znatno više zastupljene na šišmišu. Mnoge svojte dijele s ostalim sisavcima, ali imaju i jedinstvene svojte bakterija poput *Thermoleophilia*. Visoka prisutnost istih mikroorganizama i na koži šišmiša i u okolišu upućuje na visoku povezanost okoliša i jedinke (Avena i sur., 2016).

Intra- i interspecijske interakcije kod šišmiša su jako zastupljene, pa to omogućuje izmjenu mikrobnih simbionta između jedinki. Također imaju jedinstvene karakteristike integumenta: omogućavanje leta, formiranje uški i stvaranje jedinstvenih karakteristika lica. Koža na području krila može biti čak i 30 mikrometara tanka. Zbog uloge te tanke kože i raznih uloga koje ona ima u organizmu, bitno je saznati kako i kakvi mikroorganizmi mogu na njoj živjeti (Avena i sur., 2016).

Avena i suradnici (2016.) su u svojem istraživanju, koje je zahtijevalo prikupljanje uzoraka iz okoliša i s kože šišmiša na 11 različitih lokacija u tri savezne države (New York, Virginia i Colorado), pokazali koje su porodice bakterija najbrojnije i najkonstantnije u uzorcima. Dobivene su sljedeće bakterije: *Gammaproteobacteria*, *Alphaproteobacteria*, *Actinobacteria*, *Betaproteobacteria*, *Bacili*, *Flavobacteria*, *Saprospirae*, *Thermoleophilia* i *Clostridia*.

U usporedbi s drugim kralježnjacima, najviše mikroorganizama dijele s drugim sisavcima, primarno psima. Najpristunije su *Proteobacteria* i *Bacteroidetes* s visokim abundancijama (11 – 61 posto), ali najveća razlika između kožnog mikrobioma psa i šišmiša je vidljiva kod *Gammaproteobacteria* – kod psa (*Canis familiaris*) 12,5 posto, a kod populacija šišmiša prisutan je u >40 posto slučajeva. Jedina bakterija koja je pronađena ekskluzivno kod šišmiša je *Cytophagia*, ali i dalje je većina mikrobnih populacija na koži šišmiša neidentificirana, čak i na razini razreda (između 7 i 59 posto u priloženom setu podataka) (Avena i sur., 2016).

	<i>Myotis sodalis</i>	<i>Myotis lucifugus</i>	<i>Perimyotis subflavus</i>	<i>Myotis volans</i>	<i>Myotis septentrionalis</i>	Environmental Sample
Proteobacteria: Gammaproteobacteria	0.275	0.246	0.406	0.27	0.571	0.144
Actinobacteria: Actinobacteria	0.188	0.178	0.076	0.151	0.042	0.157
Proteobacteria: Alphaproteobacteria	0.118	0.128	0.123	0.137	0.084	0.132
Proteobacteria: Betaproteobacteria	0.045	0.058	0.059	0.072	0.029	0.072
Actinobacteria: Thermoleophilia	0.045	0.022	0.019	0.038	0.013	0.053
Firmicutes: Bacilli	0.041	0.032	0.032	0.029	0.015	0.04
Bacteroidetes: Flavobacteria	0.033	0.083	0.01	0.016	0.01	0.01
Bacteria: Other: Other	0.019	0.036	0.021	0.017	0.021	0.028
Proteobacteria: Deltaproteobacteria	0.017	0.014	0.032	0.016	0.027	0.027

Tablica 1. Tablični prikaz relativnih abundancija najbrojnijih 10 bakterijskih razreda kod uzorkovanih šišmiša i okolišnog uzorka.

Plava boja označuje visoku abundanciju, a crvena označuje nisku. Preuzeto iz Avena i sur. (2016.).

U **tablici 1.** prikazan je odnos između mikroorganizama u okolišu i na površini šišmiša. Plavom bojom prikazani su mikrobi visoke koncentracije, a crvenom su bojom prikazani oni manje koncentracije. Najbrojniji i najmanje brojni organizmi su uobičajeno podijeljeni između okoliša i šišmiša, a jedino se bakterije *Thermoleophilia* i *Bacilli* pojavljuju u većoj abundanciji na šišmišu nego u okolini. Ta nam tablica govori da je visoka povezanost i visoka izmjena mikrobnog materijala između šišmiša i okoline. Šišmiši su jako pokretne vrste (najpokretniji sisavci), tako da je moguće da tom svojom visokom stopom aktivnosti iz okoline skupljaju raznovrsne mikrobne populacije, pa ujedno to dovodi i do visokog diverziteta mikroba na njihovoj koži (Avena i sur., 2016).

Enterobacteriaceae koje su nađene u količini od 1,8 posto ukazuju na zagađenje kože fekalnim materijalom zato što su *Enterobacteriaceae* bakterije prisutne u probavnom sustavu. Također je pronađen soj bakterija uobičajen za oralni mikrobiom, *Pasteurellaceae*. *Enterobacteriaceae* i *Pasteurellaceae* su pronađene u 85 posto vrsta šišmiša (Avena i sur., 2016).

Otkriveno je, također, da postoje znatne razlike u kompoziciji bakterijskih populacija između tri regije i, unatoč tome što postoje zajedničke svojste, neke su regije međusobno sličnije nego druge. Između tih mikrobnih populacija visoki su alfa i beta diverziteti. Rezultati ukazuju na to da je znatno kompliciraniji način na koji šišmiši dobivaju i održavaju svoj mikrobiom, odnosno, jako je puno faktora uključeno u kožni mikrobiom (Avena i sur., 2016).

4.2. MIKROBIOM PROBAVNOG SUSTAVA

Kao što je već navedeno, šišmiši su morali proći kroz redukciju čitavog tijela kako bi omogućili let. Razvitak krila, tanja koža, smanjenje mase, redukcija probavnog sustava – samo su neke od mnogih prilagodbi koje su šišmiši razvili u korist aktivnog leta. S obzirom na to da je probavni sustav tako reduciran (smanjen), moralo je doći do promjene kompozicije mikrobioma u samom probavnom traktu.

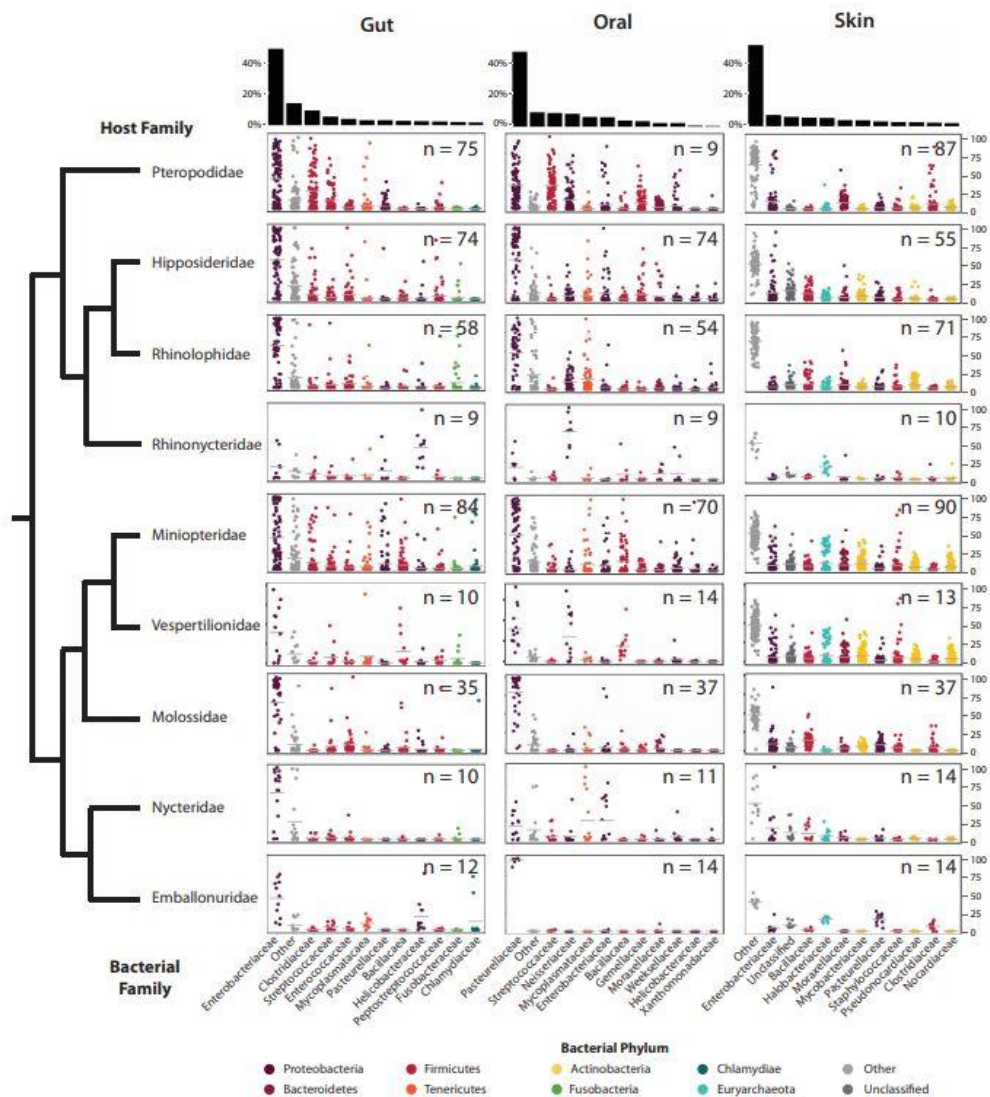
Uobičajena kompozicija mikrobioma probavnog sustava šišmiša je vrlo različita od kompozicije ostalih sisavaca kod kojih obično dominiraju *Firmicutes*. Kod šišmiša dominiraju *Proteobacteria*, što dijele s pticama koje su isto leteći kralježnjaci (**slika 1.**). Distalnim dijelom probavnog sustava šišmiša dominiraju *Enterobacteriaceae*, iako voćni šišmiši pokazuju povećan broj *Clostridiaceae* i *Streptococcaceae* u usporedbi s insektivornim šišmišima. To se može objasniti zato što su bakterije iz reda *Lactobacillales* poznate po tome da fermentiraju voće, a njima pripadaju *Streptococcaceae* (Lutz i sur., 2019).

Prehrana objašnjava < 5 posto varijacije unutar mikrobioma probavnog sustava, a kod oralnog mikrobioma objašnjava čak do 14 posto varijacije. Postoje jako slabe, zanemarive, korelacije između mikrobioma i filogenije domaćina (Lutz i sur., 2019). To znači da mikrobiom nije evolucijski ovisan, nego se razvija tijekom života šišmiša i vrlo je dinamičan, uzevši u obzir životne navike šišmiša i njihovu visoku pokretljivost.

Važno je spomenuti kako je u istraživanju koje su proveli Sun i suradnici (2020) dobiveno grupiranje genoma mikroba u probavnom sustavu šišmiša koji se, u usporedbi s kopnenim životinjama, podudara s redom *Carnivora*, uključujući crnog medvjeda, polarnog medvjeta, pande... Jedina vrsta koja ne pripada redu *Carnivora* je jež, iz reda *Insectivora*, koji, međutim, ima sličan probavni sustav kao upravo navedene vrste (Sun i sur., 2020).

Oralni mikrobiom je u većem broju sličniji mikrobiomu ostalih sisavaca, a dominiraju *Pasteurellaceae* (iz *Proteobacteria*) te u nekim slučajima i bakterije *Mycoplasmataceae*, *Neisseriaceae* i *Streptococcaceae*. Osim toga, oralni mikrobiom je najviše ovisan o prehrani i sukladno njoj se može mijenjati. Prema raznolikosti i mikrobima prisutnim u oralnom mikrobiomu može se odrediti prehrana domaćina (Lutz i sur., 2019).

Također je važno naglasiti kako je diverzitet kožnog mikrobioma izrazito veći od oralnog mikrobioma i mikrobioma probavnog sustava. To je posljedica toga što je koža u konstantnom kontaktu s okolišom te toga što su šišmiši izrazito aktivne i pokretljive životinje i mikrobiom na njihovoj površini je vrlo dinamičan te pod stalnom izmjenom „materijala” (Lutz i sur., 2019).



Slika 4. Postotak relativne abundancije najbrojnih 11 bakterijskih porodica identificiranih u probavnom, oralnom i kožnom mikrobiomu šišmiša. Boje označavaju pojedinu porodicu, a u gornjem desnom kutu svakog prikaza naveden je broj jedinki na kojima je provedeno uzorkovanje. Iznad svakog stupca prikazan je graf koji prikazuje prosječnu relativnu abundanciju. Preuzeto iz Lutz i sur. (2019.).

Na **slici 4.** prikazan je postotak abundancije top 11 bakterijskih porodica koje su otkrivene u probavnom sustavu, oralnom i kožnom mikrobiomu šišmiša. Točkice predstavljaju jedinku. Broj jedinki je upisan u gornjem desnom kutu svake kućice, crni graf iznad stupaca označava prosječne relativne abundancije (Lutz i sur., 2019).

5. PATOGENI MIKROORGANIZMI ŠIŠMIŠA

Uzimajući u obzir sve karakteristike mikrobioma koje su navedene u prijašnjim poglavljima, postavlja se pitanje koje patogene mikroorganizme nose šišmiši i kako oni utječu na druge vrste. Šišmiši su poznati kao domaćini za razne virusne patogene, i ljudske i životinjske. Stvorili su benignu filogenetsku vezu s njima, a njihova prisutnost u ljudskom okruženju i mogućnost dalekih migracija čini ih važnim izvorima zaraze za ljude, divljač i domaće životinje (Vengust i sur., 2018).

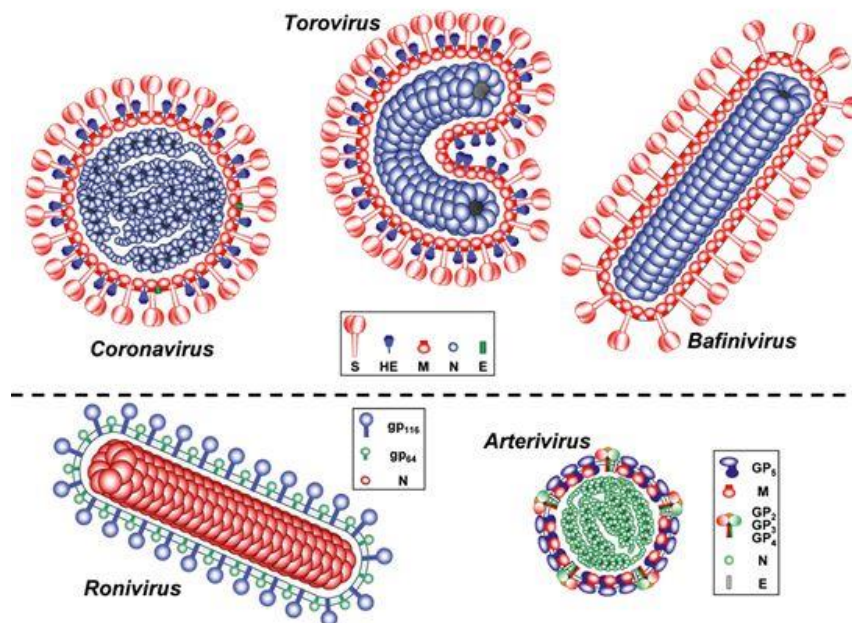
Još jedna od ključnih stavki u širenju zaraze je dijeljenje gnijezda između migrirajućih i nemigrirajućih vrsta čime se omogućuje horizontalni prijenos patogena između različitih vrsta šišmiša. To nije štetno samo za ljude, nego može biti štetno i za same šišmiše, kao što je gljivica *Pseudogymnoascus destructans* u Sjevernoj Americi. Zbog te je bakterije došlo do naglog pada u broju šišmiša jer uzrokuje sindrom bijelog nosa koji je za šišmiše smrtonosan (Vengust i sur., 2018). Napori stručnjaka da nađu lijek nisu bili uspješni, ali u novijim su se istraživanjima pojavili znakovi mogućeg rješenja. Gljivica *P. destructans* jako je osjetljiva na UV svjetlo, pa ne posjeduje gen koji omogućuje popravak DNA oštećene UV svjetlom. (<http://tragus.hr/sindrom-bijelog-nosa/>)

Šišmiši su koevoluirali s patogenima tako da rijetko pokazuju znakove zaraze, a ima nekoliko hipoteza koje pokušavaju objasniti te asimptomatske zaraze. Jedna od njih je da šišmiši, kao jedini leteći sisavci, proizvode velik broj ROS-a (reactive oxygen species) i kao odgovor na to imaju modificirane gene kako bi limitirali oksidativni stres. Te modifikacije u genima mogu uzrokovati smanjenu viralnu replikaciju i patogenost. Osim toga, poznati PYHIN (PYRIN i HIN domene) geni unutar upalnog puta i prirodni KIR-ovi (killer immunoglobulin-like receptors) ne postoje, ili su znatno reducirani kod nekih promatranih vrsta šišmiša, potencijalno limitirajući bolest i štetu koja može nastati nakon infekcije. Uz to, konstitutivna ekspresija podtipova šišmišjeg interferona limitira bolest, ali dopušta da dođe do viralne infekcije niže razine. Treća mogućnost sugerira komenzalni odnos između virusa i šišmiša. Konačno, razlike u tropizmima virusa između vrsta i tkiva nadodaju se limitiranju bolesti kod šišmiša (Menachery i sur., 2017).

Ti virusi, kada „skoče” sa svojeg domaćina na drugu vrstu, mogu rezultirati velikim patogenim upalnim odgovorima, kao što je prije viđeno kod SARS-CoV i MERS-CoV infekcija ljudi (Menachery i sur., 2017).

Koronavirusi (CoV) su RNA virusi, ujedno jedni od najvećih pripadnika reda *Nidovirales* (Slika 5.), a veliko ograničenje RNA virusa je u tome da trebaju minimizirati duljinu sekvencije kako bi preživjeli „Error catastrophe”. I CoV su uklonili to ograničenje na način da produciraju velik replikacijski kompleks s poznatom sintezom RNA i modifikacijama. Tako je velika i kompleksna RNA replikacijska mašinerija dopustila CoV da imaju više od 32 kb u genomu dok održavaju

funkcionalne komponente potrebne za život. CoV su jako štetni zato što su vrlo dinamični, a u kombinaciji s robusnim genom imaju i visoku stopu rekombinacije, horizontalan prijenos gena, duplikaciju gena i alternativne otvorene okvire čitanja da prošire funkcionalni kapacitet za trenutačne i nove domaćine (Menachery i sur., 2017).



Slika 5. Shematski prikaz virusa iz reda *Nidovirales*, Koronavirus je prikazan gore lijevo. Preuzeto sa: https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/positive-sense-rna-viruses-2011/w/posrna_viruses/219/nidovirales

Za infekciju drugih vrsta ključni su proteinski šiljci (S1 i S2 regija) koji strše iz proteinskog omotača virusa. Novija istraživanja pokazala su da ti šiljci mogu prouzročiti jaku infekciju bez dodatne manipulacije S1 i S2 regije – kako se prije mislilo. S obzirom na to da su CoV vrlo dinamični kad je riječ o prilagodbi i promjeni genoma, lako je moguće da se prilikom aklimatizacije na novog domaćina događaju prilagodbe kako bi došlo do jače i efikasnije infekcije novog domaćina (Menachery i sur., 2017).

CoV su jedinstveno pozicionirani kako bi se mogli pojaviti u novim domaćinima. To su izrazito opasni virusi koji se brzo prilagođuju i stvaraju intenzivne bolesti. Važno je napomenuti kako bi korištenje metagenomike moglo pomoći u pripremi da budu spremni za nove sojeve CoV. Također se treba ispitati S1 domena šiljastog proteina kako bi se dobio bolji uvid u način na koji funkcionira infekcija ljudskog tijela. A S2 domena se može pokazati kao ključ u sprečavanju infekcije. Naime, ako se specifično cilja ta regija, može se razviti terapija koja će imati širi i jači učinak u borbi protiv sadašnjih i budućih CoV. (Menachery i sur., 2017)

Sve navedeno o koronavirusima je iz 2017. godine (Menachery i sur. 2017). Dakle, i tada se moglo zaključiti kako su patogeni mikroorganizmi koje nosi šišmiš velika opasnost. Nažalost, to se

nije dogodilo i u današnje vrijeme (2020.) borimo se upravo protiv jednog od tih CoV virusa (SARS-COV-2).

Naravno, nisu koronavirusi jedini patogeni koje šišmiši nose, oni također nose i bakterijske patogene poput: *Coxiella*, *Bartonella*, *Rickettsia*. Enteropatogene bakterije su relevantnije, ali nemoguće ih je razlučiti između raznolikih i uobičajenih rodova poput *Clostridium* i *Escherichia* što uvelike ograničava zaključke do kojih bi se moglo doći u vezi s potencijalnim zaraznim rizicima.

6. LITERATURA

1. Avena, C. V., Parfrey, L. W., Leff, J. W., Archer, H. M., Frick, W. F., Langwig, K. E., Kilpatrick, A. M., Powers, K. E., Foster, J. T., & McKenzie, V. J. (2016). Deconstructing the Bat Skin Microbiome: Influences of the Host and the Environment . In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 7, p. 1753). <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2016.01753>
2. Delsuc, F., Metcalf, J. L., Wegener Parfrey, L., Song, S. J., González, A., & Knight, R. (2014). Convergence of gut microbiomes in myrmecophagous mammals. *Molecular Ecology*, *23*(6), 1301–1317. <https://doi.org/10.1111/mec.12501>
3. Edenborough, K. M., Mu, A., Mühldorfer, K., Lechner, J., Lander, A., Bokelmann, M., Couacy-Hymann, E., Radonic, A., & Kurth, A. (2020). Microbiomes in the insectivorous bat species *Mops condylurus* rapidly converge in captivity. *PLOS ONE*, *15*(3), e0223629. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0223629>
4. Ingala, M. R., Simmons, N. B., & Perkins, S. L. (2018). Bats Are an Untapped System for Understanding Microbiome Evolution in Mammals. *MSphere*, *3*(5), e00397-18. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00397-18>
5. Lutz, H. L., Jackson, E. W., Webala, P. W., Babyesiza, W. S., Kerbis Peterhans, J. C., Demos, T. C., Patterson, B. D., & Gilbert, J. A. (2019). Ecology and Host Identity Outweigh Evolutionary History in Shaping the Bat Microbiome. *MSystems*, *4*(6), e00511-19. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00511-19>
6. Menachery, V. D., Graham, R. L., & Baric, R. S. (2017). Jumping species—a mechanism for coronavirus persistence and survival. *Current Opinion in Virology*, *23*, 1–7. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.coviro.2017.01.002>
7. Norberg, U. M., Rayner, J. M. V., & Lighthill, M. J. (1987). Ecological morphology and flight in bats (Mammalia; Chiroptera): wing adaptations, flight performance, foraging strategy and echolocation. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences*, *316*(1179), 335–427. <https://doi.org/10.1098/rstb.1987.0030>
8. Song, S. J., Sanders, J. G., Delsuc, F., Metcalf, J., Amato, K., Taylor, M. W., Mazel, F., Lutz, H. L., Winker, K., Graves, G. R., Humphrey, G., Gilbert, J. A., Hackett, S. J., White, K. P., Skeen, H. R., Kurtis, S. M., Withrow, J., Braile, T., Miller, M., ... Knight, R. (2020). Comparative Analyses of Vertebrate Gut Microbiomes Reveal Convergence between Birds and Bats. *MBio*, *11*(1), e02901-19. <https://doi.org/10.1128/mBio.02901-19>
9. Sun, D. L., Gao, Y. Z., Ge, X. Y., Shi, Z. L., & Zhou, N. Y. (2020). Special Features of Bat

Microbiota Differ From Those of Terrestrial Mammals. *Frontiers in Microbiology*.

<https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01040>

10. Vengust, M., Knapic, T., & Weese, J. S. (2018). The fecal bacterial microbiota of bats; Slovenia. *PLOS ONE*, 13(5), e0196728. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196728>
11. Wilson, D. E. (2020). Bat. In *Encyclopædia Britannica*. Encyclopædia Britannica, inc. <https://www.britannica.com/animal/bat-mammal>
12. <http://tragus.hr/sindrom-bijelog-nosa/>
13. <https://en.wikipedia.org/wiki/Bat>
14. <https://en.wikipedia.org/wiki/Megabat>
15. <https://en.wikipedia.org/wiki/Microbat>
16. https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/positive-sense-rna-viruses-2011/w/posrna_viruses/219/nidovirales

7. SAŽETAK

Šišmiši su jedini leteći sisavci, pa kao takvi imaju vrlo specifične prilagodbe. Vrlo su dinamične i pokretljive vrste, a kako bi mogli letjeti, potrebno je bilo izgubiti na masi. Gubitkom mase izgubili su i određen dio genoma. Zbog gubitka dijelova genoma razvijena je mogućnost zaraze patogenima, ali bez upale. Zbog toga šišmiši mogu biti vrlo nezgodni jer bez simptoma prenose bolesti na druge vrste, kao što se pokazalo u raznim pandemijama uzrokovanim koronavirusima (SARS-CoV, MERS-CoV, SARS-CoV-2). U ovom je radu opisan život šišmiša i njihove navike, opisan je mikrobiom šišmiša koji je još nedovoljno opsežno istražen i navedeni su neki patogeni koji mogu biti štetniji za druge vrste nego za njih same. Šišmiši predstavljaju vrlo interesantne organizme koji se po raznim karakteristikama razlikuju od ostalih sisavaca i stoga bi trebali biti opsežnije istraženi.

8. SUMMARY

Bats are the only flying mammals, taking that into account, they have very specific adaptations. They are very dynamic and active, but, in order to fly, they had to lose weight. With losing weight, they lost a part of their genome. Because they lost parts of their genome, they created a possibility to get infected by pathogens, but without the inflammation. Because of this, bats can be very inconvenient, as they transmit pathogens onto other species without showing signs of infection themselves, like it was shown with different pandemics caused by coronaviruses (SARS-CoV, MERS-CoV, SARS-CoV-2). In this work, we described the life of a bat and his habits, the microbiome that is unfortunately, still insufficiently explored, and we listed some pathogens that can be more harmful for other species, than bats. Bats represent a very interesting organism, which doesn't follow the norm set by the other mammals, and being like that, they should be more thoroughly explored.